

Степанов С. А. Структурные и функциональные аспекты межклеточных отношений в онтогенезе побега яровой пшеницы : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М. : Изд-во МСХА, 2001. 39 с.

Степанов С. А., Коробко В. В., Даштоян Ю. В. Трансформация межклеточных отношений в онтогенезе побега пшеницы // Изв. Саратов. гос. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2005. Т. 5, вып. 2. С. 33–36.

Степанов С. А. Склеренхима – нервная ткань растений? // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения : сб. науч. ст. 2006. Вып. 9. С. 59–65.

Степанов С. А. Проблема целостности растения на современном этапе развития биологии // Изв. Саратов. гос. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2008. Т. 8, вып. 2. С. 50–57.

Уоринг Ф., Филлис И. Рост и дифференцировка. М. : Мир, 1984. 512 с.

Чайлахян М. Х. Целостность организма в растительном мире // Физиология растений. М., 1980. Т. 27, вып. 5. С. 917–940.

Чернова Т. Е., Горшкова Т. А. Биогенез растительных волокон // Онтогенез. 2007. Т. 38, № 4. С. 271–284.

Шульгин И. А., Щербина И. П., Панкрухина Т. В. Об энергетическом эффекте регуляции урожая нижними листьями // Биол. науки. М., 1988. № 10. С. 71–82.

Sadras V. O., Connor D. J., Whitfield D. M. Yield, yield components and source-sink relationships in water-stressed sunflower // Field Crops Res. 1993. Vol. 31. P. 27–39.

Singh B. N., Lal M. B. Investigation of the effect of age on assimilation of leaves // Ann. Bot. 1935. Vol. 49. P. 291–307.

УДК 339.13.012

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РИЗОБАКТЕРИЙ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

**М. А. Ханадеева¹, Л. Н. Злобина², Н. И. Старичкова³,
Л. П. Антониук¹**

¹ ФГБУН «Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН»
Саратов, пр. Энтузиастов, 13

² ГНУ «НИИ СХ Юго-Востока» РАСХН
Саратов, ул. Тулайкова, 7

³ Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского
Саратов, ул. Астраханская, 83
E-mail: natstar-12@mail.ru

Приводятся данные о влиянии предпосевной обработки семян ростостимулирующими ризобактериями на урожайность и качество зерна растений яровой мягкой пшеницы. Полученные результаты показывают положительное влияние ризобактерий на урожайность в стрессовых условиях вегетации, при этом негативного влияния предпосевной обработки на качество зерна не происходит.

Ключевые слова: яровая мягкая пшеница, показатель SDS-седиментации, микробиологический препарат, ризобактерии.

APPLICATION OF RHIZOBACTERIA FOR INCREASE IN THE EFFICIENCY OF THE SPRING SOFT WHEAT CULTIVATION

M. A. Khanadeeva, L. N. Zlobina, N. I. Starichkova, L. P. Antonyuk

The data on the effect of the pre-sowing treatment with bacteria *Azospirillum brasilense* on grain yield and quality of spring soft wheat plants are given. The results obtained show a positive effect of rhizobacteria on yield under stress conditions of vegetation, with pre-sowing does not adversely affect the quality of the grain.

Key words: spring soft wheat, SDS-sedimentation, microbiological preparations, rhizobacteria.

Перспективным направлением сельскохозяйственной биотехнологии является разработка биопрепаратов растительно-бактериальной природы, включающих не только бактерии, но и лектины – полученные из семян злаков вещества белковой и гликопротеиновой природы. Растительные лектины являются продуктами метаболизма растений. Эти биологически активные вещества положительно влияют на рост, развитие и продуктивность высших растений (Кириченко с соавт., 2005), а также на рост и физиологическую активность микроорганизмов (Сергиенко с соавт., 2006). Есть сведения о том, что применение такой растительно-бактериальной композиции для предпосевной обработки семян пшеницы активизирует ростовые процессы растений и повышает урожай зерна яровой пшеницы, а также оказывает положительное влияние на развитие агрономически полезной группы микроорганизмов-азотфиксаторов в ризосферной зоне растений. Эти данные свидетельствуют о возможности создания и перспективности использования лектиносодержащих биопрепаратов с целью повышения продуктивности сельскохозяйственных культур (Чеботарь с соавт., 2009; Whipps, 2001).

Направленное создание комплексных биопрепаратов и их широкое использование позволило бы обеспечить качественно иной уровень сель-

скохозияйственного производства, сделав его малозатратным, экологически более безопасным, а следовательно, и более конкурентоспособным.

Материал и методы

В течение четырех лет (с 2009 по 2012 г.) был проведен эксперимент, включающий лабораторные и полевые испытания с целью оценить влияние предпосевных микробных обработок семенного материала сортов яровой мягкой пшеницы, выведенных в Саратовском селекционном центре, культурой *Azospirillum brasilense* на продуктивность и качество зерна.

Лабораторные эксперименты, включающие в себя биохимическую оценку зерна и получение культуры *Azospirillum brasilense* Sp245, проводились в лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (ИБФРМ РАН г. Саратов).

Биохимическая оценка включала определение количества лектина (агглютинина зародышей пшеницы – АЗП) в зерне. Содержание АЗП оценивали по его способности агглютинировать эритроциты крови кролика в реакции гемагглютинации (РГА). О лектиновой активности в экстрактах судили по титру – конечному разведению экстракта, еще вызывающему РГА; результат оценивали в виде среднего из трех повторностей.

Полевой опыт проводился на базе Научно-исследовательского института сельского хозяйства Юго-Востока (НИИ СХ Юго-Востока, Саратов). Эксперимент состоял из контрольного посева (семена не обрабатывались бактериями) и опытных посевов, включающих предпосевную микробиологическую обработку культурой *A. brasilense* Sp245. Опытный и контрольный варианты высевали рендомизированно трехрядковыми делянками в пятикратной повторности в селекционном севообороте на поле лаборатории селекции яровых пшениц НИИ СХ Юго-Востока, предшественник – черный пар.

Качество зерна оценивали в лаборатории технологии и качества зерна НИИ СХ Юго-Востока методом SDS-седиментации, который имеет высокую положительную корреляцию с физическими свойствами теста и используется для тестирования мягких пшениц. Метод SDS-седиментации основан на способности белков клейковины набухать в слабокислой среде с добавлением SDS – додецилсульфата натрия, образуя осадок в пробирке, величина которого измеряется в мл и является показателем SDS-седиментации (SDS-объем). Этот метод широко используется за рубежом в селекции твердой пшеницы, в последние годы разработаны его

модификации (НИИ СХ Юго-Востока) для оценки качества зерна мягких пшениц (Бебякин, Крупнова, 1990).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Office Excel 2003 и Microsoft Office Excel XP. Доверительные интервалы определяли для 95% уровня значимости.

Посев и уборка урожая проводились в соответствии со сроками, рекомендованными лабораторией селекции мягкой пшеницы НИИ СХ Юго-Востока в зависимости от климатических условий: посев производился с 22 апреля по 4 мая, а сбор урожая – с 1 по 10 августа.

Результаты и их обсуждение

В качестве первого этапа в решении этой задачи изучали сортовую вариабельность АЗП в семенах 25 сортов пшеницы, выведенных в саратовском селекционном центре. В дальнейшем для эксперимента выбрали ряд сортов яровой мягкой пшеницы.

Эксперименты показали, что генотипическая вариабельность признака «содержание лектина в зерне» у яровых мягких пшениц исключительно высока: максимальные и минимальные значения этого признака имели примерно 40-кратные отличия. У сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*) можно выделить три группы: с высоким, низким и средним содержанием лектина. Первая группа включала 2 сорта – Саратовская 64, Саратовская 60 (титры 1 : 96 и 1 : 178 соответственно). Наименьший уровень содержания лектина был выявлен у Альбидум 28, Альбидум 29 и сорта Лебедушка (титры от 1 : 4 до 1 : 11). Остальные сорта: Саратовская 38, Саратовская 42, Саратовская 52, Саратовская 58, Саратовская 66, Саратовская 68, Саратовская 70 и Фаворит занимали промежуточное положение по содержанию АЗП в семенах (титры от 1 : 21 до 1 : 64). Важно отметить отсутствие резких границ между группой сортов со средним уровнем АЗП, с одной стороны, и группами с низким или высоким содержанием лектина – с другой.

Семена изучаемых сортов пшеницы перед посевом подвергали микробиологическим обработкам. Опытные варианты обрабатывались суспензией культуры *A. brasilense* Sp245 в концентрациях от 10^5 до 10^7 бактериальных клеток на зерновку.

Проводился анализ погодных условий вегетационного периода в течение каждого года эксперимента. Климатические условия в период вегетации в 2009, 2011 и 2012 гг. по сравнению с многолетними данными из-

менялись незначительно. Средние многолетние климатические данные, полученные на метеостанции НИИ СХ Юго-Востока, использовались для сравнения и были условно приняты за норму. Климатические условия в течение вегетационного периода 2010 г. отличались аномально жарким и засушливым летним периодом: среднее отклонение температуры в течение летних месяцев составило $+6,7^{\circ}\text{C}$ (выше нормы на 27%), а суммарный дефицит влаги равнялся 110,4 мм (меньше нормы на 60,3%).

После завершения эксперимента проводили изучение влияния предпосевных микробных обработок на продуктивность яровой пшеницы. Учет урожайности каждого сорта проводился по вариантам опыта по показателю «масса зерна с делянки».

Анализ полученных данных показал, что урожайность у всех сортов значимо увеличилась при обработке семян и раскустившихся растений культурой *A. brasilense* Sp245 в экстремальном по погодным условиям 2010 г., который выдался аномально жарким даже в условиях засушливого климата Саратовской области. В другие годы проведения эксперимента (2009, 2011 и 2012) мы столкнулись с хорошо известным явлением нестабильности результатов инокуляции. У отдельных сортов не наблюдали значимых различий по урожайности между опытными и контрольными посевами, у других было либо небольшое снижение, либо увеличение показателя «масса зерна с делянки» по сравнению с контролем.

В эксперименте 2009 г. проводилась обработка шести сортов – Альбидум 28, Альбидум 29, Саратовская 60, Саратовская 64, Саратовская 68, Лебедушка суспензией культуры *A. brasilense* Sp245. Уровень инокуляции составил 10^7 бактериальных клеток на зерновку. Результаты оценки качества зерна методом SDS-седиментации приведены в табл. 1.

Как видно из полученных данных, бактериальная обработка значимо повысила качество зерна у сортов Альбидум 28 (низкоколектиновый) и Саратовская 64 (высококолектиновый), у сорта Лебедушка наблюдали небольшое снижение анализируемого показателя.

Исходя из полученных результатов, план экспериментальных работ в 2010 г. был скорректирован. Для дальнейших исследований оставили три сорта: Альбидум 28 и Альбидум 29 – низкоколектиновые сорта и высококолектиновый Саратовская 64. Опытные сорта обрабатывались суспензией культуры *A. brasilense* Sp245 в двух вариантах концентрации рабочей суспензии: 1-й вариант – 10^5 бактериальных клеток на зерновку и 2-й вариант – 10^6 бактериальных клеток на одно семя.

Таблица 1

Показатель SDS-седиментации в 2009 г.

| Сорт | Показатель седиментации, мл | |
|----------------|-----------------------------|--|
| | Контроль | <i>A. brasilense</i> Sp245, 10 ⁷ кл./семя |
| Альбидум 28 | 43,7±1,2 | 46,3±0,3* |
| Альбидум 29 | 45,7±1,45 | 43,7±1,45* |
| Саратовская 60 | 44,3±0,7 | 45,7±0,88* |
| Саратовская 64 | 40,3±0,88 | 43,7±1,2* |
| Саратовская 68 | 44,0±0,58 | 45,0±1,53 |
| Лебедушка | 45,0±2,0 | 42,3±0,88* |

Примечание. Знаком * отмечены варианты, в которых наблюдались статистически достоверные отличия.

Урожайность у всех трех сортов, включая и низколектиновые, значительно увеличилась при обработке семян. При этом наибольшая урожайность отмечена во втором варианте опыта с обработкой 10⁶ бактериальных клеток на одно семя: прибавка урожая по сравнению с контролем у сорта Альбидум 28–36,7%, у сорта Альбидум 29–91,3%, у сорта Саратовская 60–77,3%.

Показатели качества зерна, оцененные методом SDS-седиментации, приведены в табл. 2.

Таблица 2

Показатель SDS-седиментации в 2010 г.

| Сорт | Показатель седиментации, мл | | |
|----------------|-----------------------------|--|--|
| | Контроль | <i>A. brasilense</i> Sp245, 10 ⁵ кл./семя | <i>A. brasilense</i> Sp245, 10 ⁶ кл./семя |
| Альбидум 28 | 58±0 | 54,3±0,33* | 56,3±1,45* |
| Альбидум 29 | 53,3±0,66 | 56,0±4,04 | 53,7±0,33 |
| Саратовская 64 | 47,3±0,88 | 45,3±2,96 | 49,3±2,40 |

Примечание. Знаком * отмечены варианты, в которых наблюдались статистически достоверные отличия.

Из представленных в табл. 2 данных видно, что у двух сортов – Альбидум 29 и Саратовская 64 предпосевная обработка семян бактериями не оказывала влияния на показатель SDS-седиментации, у сорта Альби-

дум 28 уровень SDS-седиментации был достаточно высоким (см. табл. 2), при этом опытные значения были несколько более низкими по сравнению с контролем.

В 2011 г. в план опытного посева были включены дополнительно сорта яровой мягкой пшеницы: низколектиновый Лебедушка и высоколектиновые Саратовская 60 и Саратовская 68. Таким образом, в полевом опыте использовались шесть сортов: Альбидум 28, Альбидум 29, Саратовская 60, Саратовская 64, Саратовская 68 и Лебедушка.

Обработку семян проводили рабочей суспензией с концентрацией 10^6 клеток. Все остальные факторы – время и количество обработок, агротехнические мероприятия были такими же, как и в эксперименте 2010 г. Результаты эксперимента показали отсутствие достоверных отличий по урожайности между экспериментальным и контрольным вариантами опыта как у высоколектиновых сортов, так и у низколектиновых. Показатель SDS-объема определяли также у посевного материала – семян репродукции 2010 г. до их обработки ризобактериями. Оценка качества зерна приведена в табл. 3.

Таблица 3

Показатель SDS-седиментации в 2011 г.

| Сорт | Показатель седиментации, мл | | |
|----------------|-------------------------------------|-----------|---|
| | Посевной материал (репрод. 2010) | Контроль | <i>A. brasilense</i> , 10^6 кл./семя |
| Альбидум 28 | 45.7±0.88 | 42.7±0.88 | 40.0±1.15* |
| Альбидум 29 | 42.7±0.66 | 42.0±3.05 | 38.7±1.20 |
| Саратовская 60 | 42.3±0.88 | 39.3±1.76 | 36.7±0.66* |
| Саратовская 64 | 37.3±1.76 | 39.7±1.86 | 42.7±2.02* |
| Саратовская 68 | 41±0.58 | 37.3±0.66 | 40.0±0.58* |
| Лебедушка | 38.3±0.33 | 39.7±0.88 | 42.3±0.33* |

Примечание. Знаком * отмечены варианты, в которых наблюдались статистически достоверные отличия.

Как видно из представленных данных, влияние предпосевной обработки на показатель SDS-седиментации было различным у разных сортов. В случае сортов Саратовская 64, Саратовская 68 и Лебедушка влияние было положительным, у сорта Альбидум 29 обработка азоспи-

риллами не оказывала влияния, а у сортов Альбидум 28 и Саратовская 60 наблюдалось небольшое ингибирование – снижение показателя.

В полевой эксперимент 2012 г. были включены сорта, имеющие среднее (промежуточное) содержание АЗП в зерне – Саратовская 66 и Саратовская 70. Обработку семян проводили рабочей суспензией с концентрацией 10^6 клеток на семя. Все остальные факторы – время и количество обработок, агротехнические мероприятия были такими же, как и в предшествующих экспериментах.

Климатические условия вегетационного периода 2012 г. мало отличались от среднестатистических по региону, однако имели свои особенности – значительный дефицит влаги во время вегетации растений пшеницы (в период с мая по июль дефицит влаги составил 59 мм).

У сорта Альбидум 28 отмечено значимое увеличение урожайности, у сортов Альбидум 29, Саратовская 66 и Саратовская 70 – незначительное статистически достоверное снижение, у сортов Саратовская 60 и Саратовская 64 значимых различий по урожайности между опытом и контролем не выявлено.

Полученные показатели качества зерна, оцененные методом SDS-седиментации, приведены в табл. 4. В эксперимент был включен анализ качества зерна посевного материала помимо анализа опытного и контрольного посевов.

Таблица 4

Показатель SDS-седиментации в 2012 г.

| Сорт | Показатель седиментации, мл | | |
|----------------|-------------------------------------|-----------|---|
| | Посевной материал (репрод. 2010–11) | Контроль | <i>A. brasilense</i> Sp245, 10^6 кл./семя |
| Альбидум 28 | 45.7±0.88 | 56.7±1.33 | 57.7±1.45 |
| Альбидум 29 | 42.7±0.66 | 57.0±1.53 | 56.0±1.54 |
| Саратовская 60 | 42.3±0.88 | 56.7±1.45 | 56.0±1.53 |
| Саратовская 64 | 37.3±1.76 | 53.7±0.33 | 56.3±1.20* |
| Саратовская 66 | 42.7±0.66 | 62.0±2.0 | 65.3±1.33* |
| Саратовская 70 | 41.7±2.60 | 61.3±2.73 | 60.3±3.18 |

Примечание. Знаком * отмечены варианты, в которых наблюдались статистически достоверные отличия.

В эксперименте 2012 г. ни у одного из шести протестированных сортов не обнаружено негативного влияния предпосевной обработки на показатель SDS-седиментации. Качество зерна увеличивалось у сортов Саратовская 64 и Саратовская 66, у остальных четырех сортов оно не изменялось.

Сравнение между собой показателей посевного материала и зерна урожая 2012 г. показывает значительное увеличение SDS-седиментации в семенах репродукции 2012 г., что доказывает заметное влияние климатических условий на проявление изучаемого признака.

Характеризуя полученные по SDS-седиментации данные, следует отметить, что в целом предпосевная обработка семян яровых мягких пшениц бактериями *A. brasilense* Sp245 не снижала качества семян нового урожая. Полученная нами «матрица данных» (сведенные вместе полученные результаты) по показателю SDS-седиментации представлена 24 отдельными результатами.

В большинстве случаев SDS-седиментация либо статистически не отличалась от контроля (10 результатов из 24), либо возрастала (8 результатов из 24). В тех немногих случаях, когда значения опытных образцов были ниже контрольных (Альбидум 28 – в 2010 и 2011 гг., сорт Лебедушка – в 2009 г. и Саратовская 60 – в 2011 г.), снижение было незначительным и в целом сопоставимым с вариабельностью признака в других анализируемых образцах.

Вероятно, изменение качества зерна пшеницы в ответ на предпосевную обработку семян бактериями зависело, наряду с другими факторами, и от генотипа анализируемого сорта. Так, у сорта Саратовская 64 (со средним количеством лектина в зерновке) ни разу не наблюдалось случаев снижения показателя SDS-седиментации в опыте по сравнению с контролем, причем в 3 случаях из 4 было увеличение качества в ответ на инокуляцию. И наоборот, Альбидум 28, также включенный в эксперимент в течение четырех лет, отличался нестабильностью реакции в ответ на инокуляцию как по урожайности, так и по качеству. Вероятно, это связано с особенностями сорта, селекция которого проходила в острозасушливых условиях Краснокутской госселекстанции.

Одной из задач нашей работы было сопоставление двух групп данных, полученных в рамках одного и того же полевого эксперимента: сравнивались показатели «масса зерна с делянки» и «SDS-седиментация». Такое сопоставление позволяет выяснить, есть ли корреляция между из-

менением урожайности под влиянием предпосевной обработки семян, с одной стороны, и изменением качества зерна – с другой. Подобной корреляции нами не выявлено, однако была выявлена другая важная закономерность: при отсутствии прибавки урожая (в случаях, когда показатель «масса зерна с делянки» не возрастал) наблюдалось улучшение качества зерна – показатель «SDS-седиментация» увеличивался.

Список литературы

Бебякин В. М., Крупнова О. В. Генетическая обусловленность SDS-показателя у яровой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. 1990. Т. 24, № 4. С. 61–65.

Кириченко Е. В., Жеймода А. В., Коць С. Я. Влияние растительно-бактериальной композиции на продуктивность яровой пшеницы // Агрохимия. 2005. № 10. С. 41–27.

Сергиенко В. Г., Перковская Г. Ю., Титова Л. В., Кириченко Е. В. Применение биологически активных препаратов против болезней томата // Защита растений, 2006. Вып. 30, ч. 1. С. 506–509.

Чеботарь В. К., Макарова Н. М., Шапошникова А. И., Кравченко Л. В. Антифунгальные и фитостимулирующие свойства ризосферного штамма *Bacillus subtilis* Ч-13 – продуцента биопрепаратов // Прикладная биохимия и микробиология. 2009. Т. 45, № 4. С. 465–469.

Whipps J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere // J. Experim. Botany. 2001. Vol. 52, № 90001. P. 487–511.